



TITLE:

FRET-based quantitative analysis of feedforward and feedback loops in EGFR signaling and the sensitivity to molecular targeting drugs(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Fujita, Yoshihisa

CITATION:

Fujita, Yoshihisa. FRET-based quantitative analysis of feedforward and feedback loops in EGFR signaling and the sensitivity to molecular targeting drugs. 京都大学, 2015, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2015-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k18848>

RIGHT:

許諾条件により本文は2015/06/09に公開; 許諾条件により要旨は2015/06/09に公開; This is the accepted version of the following article: Fluorescence resonance energy transfer based quantitative analysis of feedforward and feedback loops in epidermal growth factor receptor signaling and the sensitivity to molecular targeting drugs, which has been published in final form at <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/febs.12852/abstract>.

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	藤 田 芳 久
論文題目	FRET-based quantitative analysis of feedforward and feedback loops in EGFR signaling and the sensitivity to molecular targeting drugs (EGFR シグナル伝達系におけるフィードフォワードとフィードバック制御および分子標的薬の感受性についての FRET イメージングに基づいた定量解析)		
(論文内容の要旨)			
<p>細胞内情報伝達系の中で、Ras/ERK および PI3K/mTOR 情報伝達系は細胞の増殖、分化や生存といった根本的な細胞機能を制御しており、これらの経路における遺伝子変異は様々な腫瘍を発生させる。細胞内情報伝達系は単に上流から下流に情報を伝えるものではなく、下流から上流へのフィードバック制御や、異なる情報伝達系が相互作用するクロストーク制御などを含み、非常に複雑なネットワークを構成している。現在までにこのネットワークについて、数多くの構成要素が発見されてきたが、全容の解明にはいまだ至っていない。また、発見されたそれぞれの構成要素の多くは断片的にしか理解されておらず、これらが連動することで情報伝達系全体がどのような挙動をするのかということは現在究明すべき課題となっている。</p> <p>本研究では、Ras/ERK および PI3K/mTOR 情報伝達系を統合的かつ定量的に理解することを目的とし、FRET イメージングによって取得した大規模データと、過去の研究で得られたパラメータやモデルを基にして、この情報伝達系についてのシミュレーションモデルを構築することを試みた。FRET イメージングは、高い時間解像度で細胞内における分子活性の変化を測定することを可能にした。HeLa 細胞において、EGF 刺激に対する EGFR、Ras、ERK、S6K 分子の活性がどのように変化するかを、各種阻害薬を与えた場合と与えない場合について FRET イメージングで取得し、得られた画像を、作成した画像解析プログラムを用いて高速に処理した。このイメージング解析結果は、種々のフィードフォワード、フィードバック制御の影響を反映していた。モデル作成の過程において、過去の研究でモデルに取り入れられていた経路のほかに、一つのフィードフォワード制御と二つのネガティブフィードバック制御が重要なものとして同定された。このうち一つは、複数のクロストーク反応が組み合わさったものであり、その個々の反応は過去に発見されていたものの、全体としてフィードバック制御を成すということは明らかにされていなかった。また、シミュレーションの結果、これらのフィードフォワード、フィードバック制御の強さは、EGF 刺激からの時間依存的に変化することが見出された。</p> <p>さらに、ここで作成したシミュレーションモデルを用いて、抗癌剤として使われる分子標的薬が癌細胞内の Ras/ERK および PI3K/mTOR 情報伝達系にどのような影響を与えるのかについてシミュレーションで再現することを試みた。シミュレーションモデルに遺伝子変異と分子標的薬を導入し、異なる遺伝子変異を持つ細胞内の分子活性が分子標的薬によってどのように抑制されるのかをシミュレーションした。その結果、BRafまたはKRas 変異の癌細胞株に対して分子標的薬を単剤投与および併用した際の反応が再現された。これにより、このモデルに含まれるフィードバック制御が、遺伝子の転写、翻訳を伴わない薬剤耐性に関与していることが示唆された。将来的に、定量的シミュレーションモデルの構築が、一人一人異なる性質を持つ癌に対して、最適な抗癌剤の組み合わせを予測する技術につながることが期待される。</p>			

<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>Ras/ERKおよびPI3K/mTOR情報伝達系を統合的かつ定量的に理解することを目的とし、FRET イメージングによって取得した大規模データと、過去の研究で得られたパラメータやモデルを基にして、この情報伝達系のシミュレーションモデルを構築することを試みた。イメージング解析結果は、種々のフィードフォワード、フィードバック制御の影響を反映していた。モデル作成の過程において、過去の研究でモデルに取り入れられていた経路のほかに、一つのフィードフォワード制御と二つのネガティブフィードバック制御が重要なものとして同定された。このうち一つは、複数のクロストーク反応が組み合わさったものであり、その個々の反応は過去に発見されていたものの、全体としてフィードバック制御を成すということは明らかにされていなかった。さらに、作成したシミュレーションモデルを用いて、Ras/ERK および PI3K/mTOR 情報伝達系を標的とする分子標的薬の抗癌活性を予測することを試みた。その結果、BRafまたはKRas変異の癌細胞株に対して分子標的薬を単剤投与および併用した際の反応が再現された。これにより、このモデルに含まれるフィードバック制御が、遺伝子の転写、翻訳を伴わない薬剤耐性に関与していることが示唆された。</p> <p>以上の研究は、細胞内情報伝達系をシステムとして理解することに貢献し、さらに抗癌剤の最適な治療戦略に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 26 年 9 月 18 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>	
要旨公開可能日：	2015 年 6 月 9 日 以降